



کیت اندازه گیری فعالیت استیل کولین استراز

AChE Activity Assay Kit CN. KPG-Ach

استیل کولین استراز (AChE) یک آنزیم کولینرژیک است که عمدتاً در اتصالات عصبی عضلانی پس سیناپسی، به ویژه در عضلات و اعصاب یافت می شود. این آنزیم با سرعت استیل کولین (یک انتقال دهنده عصبی طبیعی) را تجزیه یا هیدرولیز می کند و به اسید استیک و کولین تبدیل می کند. این آنزیم در سرم و در گلبول های قرمز نیز مشاهده می شود.

• محتویات کیت:

- معرف A (CN. KPG-AChEA): ۲ عدد
- استاندارد (CN. KPG-AChES)
- موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:
 ۱. سمپلر و سر سمپلر، ۲. سانتریفیوژ، ۳. الایزا ریدر حاوی طول موج ۵۶۰ نانومتر، ۴. آب مقطر، ۵. اتانل ۹۶ درصد

آماده سازی محلول ها:

➤ برای آماده سازی معرف استیل کولین استراز، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۱/۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۷۵۰ میکرولیتر) از اتانل ۹۶ درصد را به هر ظرف مربوط به معرف استیل کولین استراز اضافه کنید و به خوبی مخلوط کنید. در ادامه در کیت ۹۶ تستی ۳/۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۱۷۵۰ میکرولیتر) آب مقطر به ظرف مربوط به معرف استیل کولین استراز اضافه کنید. دقت نمایید در صورتیکه معرف به خوبی حل نشود (به دلیل تفاوت کیفیت اتانل)، با استفاده از حمام التراسونیک و یا پروب سونیکاتور اقدام به حل کردن معرف کنید. در صورت عدم موجود بودن دستگاه های ذکر شده به خوبی (حداقل ۳ دقیقه) وورتکس کنید. دقت نمایید با توجه به ناپایدار بودن معرف استیل کولین استراز، دو ظرف در کیت موجود است تا در زمان نیاز هر یک آماده سازی شوند.

معرف تهیه شده به مدت ۷۲ ساعت و در مکان تاریک پایدار می باشد.

آماده سازی نمونه ها

در صورتیکه هدف بررسی فعالیت تام استیل کولین استراز می باشد به میزان ۱۰ میکرولیتر از خون تام حاوی ضد انعقاد را با ۸ میلی لیتر از آب مقطر محلول کرده و بعد از مخلوط کردن شدید، به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

در صورتیکه هدف بررسی فعالیت استیل کولین استراز در RBC خالص می باشد ابتدا ۱ سی سی خون را با ۱۰ سی سی سرم فیزیولوژی و برای سه مرتبه شستشو کرده سپس ۱۰۰ میکرولیتر از خون شسته شده را با ۸ میلی لیتر از آب مقطر محلول کرده و بعد از مخلوط کردن شدید، به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. در ادامه خون را به نسبت ۱/۴۰ با بافر PBS رقیق کنید.

برای بررسی فعالیت استیل کولین استراز در نمونه بافت، ابتدا ۲۵ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر PBS هموژن کرده در ادامه به مدت ۵ دقیقه در دور RPM ۵۰۰۰ سانتریفیوژ کرده و از مایع رویی برای تست استفاده کنید. از نمونه سوپرناتانت کشت سلول به دلیل داشتن معرف های رنگی حساس به Ph استفاده نکنید بلکه نمونه سلول را بایستی ابتدا از محیط جمع آوری کرد سپس با PBS شستشو داد و سپس در بافر رپا مخصوص تست های استرس اکسیداتیو (میتوانید از کارمانیا پارس ژن تهیه کنید) با دستگاه سونیکاتور کاملاً لیز کرده و لیزارت سلول را سانتریفیوژ کرده و از سوپرناتانت برای تست استفاده کنید. دقت نمایید، در صورتیکه دستگاه سونیکاتور ندارید، نمونه سلول غوطه ور شده در بافر رپا را به تعداد ۱۰ مرتبه فریز و ذوب کنید و در هر بار به شدت مخلوط کنید.

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش، اجزای کیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه دارید.
۲. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه (نمونه های آماده شده خون تام، شسته شده یا سوپرناتانت بافت) را به چاهک الایزا اضافه کنید.
۳. به میزان ۵۰، ۲۵، ۱۲، ۶ و ۳ میکرولیتر از استاندارد به چاهک های جداگانه الایزا اضافه کنید و با نام های استاندارد ۱ (۱۶ U/mL)، ۲ (۸ U/mL)، ۳ (۴ U/mL)، ۴ (۲ U/mL) و ۵ (۱ U/mL) نامگذاری کنید.

شماره	استاندارد	غلظت
۱	۱۰۰ میکرولیتر	۱۶ U/mL
۲	۵۰ میکرولیتر	۸ U/mL
۳	۲۵ میکرولیتر	۴ U/mL
۴	۱۲ میکرولیتر	۲ U/mL
۵	۶ میکرولیتر	۱ U/mL

۴. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر به چاهک بلانک اضافه کنید.
 ۵. ۱۰۰ میکرولیتر از معرف استیل کولین استراز به تمامی چاهک ها اضافه کنید و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه کنید و در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری کنید. ابتدا مقادیر OD مربوط به بلانک را از نمونه ها و استانداردها کسر کرده سپس اقدام به رسم نمودار کرده و مقادیر نمونه ها را بر اساس نمودار به دست آورید.
- دقت فرمایید که مقادیر نرمال فعالیت استیل کولین استراز در بافت های مختلف با یکدیگر متفاوت می باشد. با این وجود در RBC بین ۱-۲ U/mL می باشد.

در صورتیکه نیاز به محاسبه میزان مهار عملکرد آنزیم دارید از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{Inhibition percent} = \left(1 - \frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Control}}}\right) \times 100$$

A sample = جذب نمونه حاوی بازدارنده A control = جذب بدون بازدارنده

دستورالعمل های ایمنی: محلول های مورد استفاده در این کیت برای بافت انسان خطرناک هستند، از این رو، در موارد تماس با پوست، چشم و غیره، با آب شسته و برای درمان اضافی به بیمارستان مراجعه کنید.

کیت های مشابه در حیطه اکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها تولیدی کارمانیا پارس ژن:

۱. کیت بررسی فعالیت تام آنتی اکسیدانی (FRAP)
۲. کیت بررسی فعالیت کاتالاز
۳. کیت بررسی فعالیت MDA
۴. کیت بررسی میزان NO
۵. کیت بررسی فعالیت پاراکسوناز-۱
۶. کیت بررسی میزان کربونیل پروتئین
۷. کیت بررسی فعالیت SOD
۸. کیت اندازه گیری توتال پروتئین

کارمانیا پارس ژن تولید کننده کیت های:

۱. الایزا برای اندازه گیری سایتوکین ها
۲. استخراج DNA و RNA به روش های ستونی، رسوبی و نانوذرات مگنت
۳. اندازه گیری miRNA ها
۴. محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول های سرطانی و بنیادی مزانشیما
۵. میکروتیوب ها دستگاه های Real-Time PCR
۶. ستون های تخلیص DNA و RNA
۷. محصولات یکبار مصرف آزمایشگاهی مانند یورین باتل و ...

با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR ۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳-۰۳۴۴۲۰۸۰۲۵